

**INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DO SERTÃO PERNAMBUCANO
CAMPUS PETROLINA ZONA RURAL**

CURSO DE BACHARELADO EM AGRONOMIA

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DAS
PLANTAS DA CAATINGA *Turnera subulata* Sm. e *Senna siamea*
(Lam.) H.S.Irwin & Barneby FRENTE A ISOLADOS DE
*Staphylococcus spp.***

ANA LÚCIA DE OLIVEIRA BORGES

**PETROLINA, PE
2018**

ANA LÚCIA DE OLIVEIRA BORGES

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DAS
PLANTAS DA CAATINGA *Turnera subulata* Sm. e *Senna siamea*
(Lam.) H.S.Irwin & Barneby FRENTE A ISOLADOS DE
*Staphylococcus spp.***

Trabalho de Conclusão de Curso
apresentado ao IF SERTÃO-PE *Campus*
Petrolina Zona Rural, exigido para a
obtenção de título de Engenheira Agrônoma.

**PETROLINA, PE
2018**

FICHA CATALOGRÁFICA

B732p Borges, Ana Lúcia de Oliveira.
Potencial antimicrobiano dos extratos etanólicos das plantas da caatinga *Turnera subulata* Sm. e *Senna siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby frente a isolados de *Staphylococcus spp.* /Ana Lúcia de Oliveira Borges. – Petrolina: PE, 2018.
29f. :il.

Orientador: Prof. Dr. Rodolfo de Moraes Peixoto.
Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em Agronomia) – Instituto Federal de Educação, Ciências e Tecnologia do Sertão Pernambucano, Campus Petrolina Zona Rural.

1. Extratos naturais. 2. Atividade antibactericida. 3. Pequenos ruminantes. I. Peixoto, Rodolfo de Moraes. II. Instituto Federal de Ciências e Tecnologia do Sertão Pernambucano. III. Título.

CDD 581.19
CDU 581.4

ANA LÚCIA DE OLIVEIRA BORGES

**POTENCIAL ANTIMICROBIANO DOS EXTRATOS ETANÓLICOS DAS
PLANTAS DA CAATINGA *Turnera subulata* Sm. e *Senna siamea*
(Lam.) H.S.Irwin & Barneby FRENTE A ISOLADOS DE
*Staphylococcus spp.***

Trabalho de Conclusão do Curso apresentado ao IF
SERTÃO-PE *Campus* Petrolina Zona Rural, exigido
para a obtenção de título de Engenheira Agrônoma.

Aprovada em: ____ de _____ de ____.

Professor (Membro da banca examinadora)

Professor (Membro da banca examinadora)

Professor (Orientador)

RESUMO

As plantas são fontes de vários produtos biológicos ativos, que dão origem a vários fármacos comerciais, a partir da necessidade de testar novos artifícios para controlar a população de bactérias que acometem animais de produção. Objetivou-se neste estudo avaliar o potencial inibitório do crescimento bacteriano do *Staphylococcus* spp. em extratos de *Turnera subulata* e *Senna siamea*. Realizou-se a triagem fitoquímica dos extratos etanólicos das espécies coletadas, sendo utilizado o teste de cromatografia em camada delgada. Dos componentes citados, observou-se a ausência das saponinas, em ambos extratos avaliados, e a presença dos compostos químicos: alcaloides, cumarinas, flavonoides/taninos, lignanas, mono/diterpeno e triterpeno/esteroides, destacando-se a ausência das saponinas, nos extratos avaliados, e os derivados antracênicos revelados apenas na *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby. Na verificação da atividade antimicrobiana, realizada com três cepas de bactérias *Staphylococcus* spp. coletadas em caprinos com mastite subclínica dos municípios das zonas rurais dos estados de Pernambuco e Bahia e uma cepa de *Staphylococcus aureus* MRSA. Na faixa de inibição, destacou-se a *T. subulata* Sm., com variação de 1562,5 – 6250 mm, em relação ao tratamento com *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby. No presente estudo foi encontrada atividade antibacteriana nos extratos etanólicos das duas plantas, entretanto, são necessários estudos com variadas frações destes extratos, considerando o baixo custo e facilidade na aquisição das plantas.

Palavras-chave: Extratos naturais, Atividade antibactericida, pequenos ruminantes

DEDICATÓRIA

Altíssimo Deus, pela minha vida e fé ...

Minha Mãe, minha principal orientadora e fortaleza ...

Meus familiares, pela força diária ...

Meus conterrâneos, por me ouvirem e motivarem a crescer ...

AGRADECIMENTOS

Agradeço ao Criador do Universo, pela vida que possuo, por tudo que me acontece...

Agradeço a Expedita Isabel, minha mãe, por tudo, inclusive por ser a minha principal motivação desde que voltei a estudar...

Agradeço aos meus familiares, por todo o apoio que venho recebendo ...

Agradeço a Prefeitura Municipal de Sobradinho, na pessoa de todos os meus colegas de trabalhos, Senhores/as Diretores/as, Coordenadores, Secretários/as e Senhores Prefeitos, por permitirem todas as horas que eu pudesse estudar...

Agradeço ao IF Sertão Campus Petrolina Zona Rural, minha segunda casa, que me recebeu no ano de 2010 e que faz parte da minha vida, na pessoa de todos os funcionários e colegas de curso, que conheci até hoje...

Em especial, agradeço aos meus Professores/as Rodolfo Peixoto, Flávia Cartaxo, Vitor Prates e Adelmo Santana, por todas as ajudas nos resultados que venho conquistando nos últimos dois anos... e Orientadores/as desse trabalho, Giovanna Nogueira, Maura Sousa, Luciana Peixoto, Eliatania Costa, Fernanda Fernandes, Márcio Tavares, Rafael Libório e Ricardo Macedo.

Muito obrigada!

EPÍGRAFE

Uma longa caminhada começa
com o primeiro passo...

(Lao-Tsé)

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

- ANVISA** - Agência Nacional de Vigilância Sanitária
- CBM** – Contagem Bactericida Mínima
- CCDA** – Teste de Cromatografia em Camada Delgada
- CCS** - Contagem de Células Somáticas
- CIM** – Concentração Inibitória Mínima
- Cnpq** – Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico
- EEB** – Extrato Etanólico Bruto
- EBMF** - Extrato Bruto Metanólico das Folhas
- EHT** - Extrato Hidroalcolico
- IF SERTÃO** – Instituto Federal do Sertão Pernambucano
- MD** – Mama Direita
- MH** – Muller-Hinton
- MRSA** – Methicillin – Resistant *Staphylococcus Aureus*
- NaCl** – Cloreto de Sódio
- NEMA** – Núcleo de Ecologia e Monitoramento Ambiental
- PIBIC** – Programa Institucional de Bolsas de Iniciação Científica
- UNIVASF** – Universidade do Vale do São Francisco
- UV** – Ultravioleta

LISTA DE SÍMBOLOS

$\mu\text{L}/\text{mg}$ – microlitros por miligramas

nm - nanômetros

mg/mL – miligramas por microlitros

mm – microgramas por mililitros

mL – mililitros

μL - microlitros

SÚMARIO

1.INTRODUÇÃO	11
2.REFERENCIAL TEÓRICO	12
2.1. Caprinocultura leiteira	12
2.2. Mastite em caprinos	12
2.3. Uso de extratos de plantas	13
3.OBJETIVO GERAL	15
3.1. Objetivos Específicos	16
4. MATERIAL E MÉTODOS	16
4.1. Coleta de Material Botânico	16
4.2. Processamento do Material Vegetal	16
4.3. Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB)	16
4.4. Teste de Cromatografia em Camada Delgada (CCDA)	17
4.5. Teste de Sensibilidade aos Extratos das Plantas	17
4.6. Análise Estatística	18
5. RESULTADO E DISCUSSÃO	19
5.1. Teste Antimicrobiano	20
6. CONSIDERAÇÕES	22
7. APÊNDICE	23
7.1 Apêndice 1- Exsicata de <i>Turnera subulata</i>	23
7.2 Apêndice 2- Exsicata de <i>S. siamea (Lam.) H.S.Irwin & Barneby</i>	24
7.3 Apêndice 3- Etapas do teste de Cromatografia: a, b, c e d	25
8. REFERÊNCIAS	26

1- INTRODUÇÃO

O uso de plantas medicinais pela humanidade, é uma prática presente em todas as partes do mundo, normalmente baseada na tradição dos povos, é possível observar e entender, que, para cada planta manipulada por seres humanos, várias formas de preparos e usos dos vegetais, para obtenção de cura de males, produção de chás, pomadas e demais produtos obtidos com as partes das plantas conhecidas, são produzidas de formas diferenciadas. No tratamento de enfermidades em animais, por exemplo, também é utilizado várias receitas, com o uso de plantas com potencial de cura para ferimentos, infecções, sangramentos, dores, dentre outros males (BORGES, 2017).

Plantas medicinais são aquelas que possuem princípios bioativos com propriedades profiláticas ou terapêuticas. O uso de plantas medicinais é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária - ANVISA, órgão do Ministério da Saúde, que publica resoluções que regulam quais, quando e como as chamadas 'drogas vegetais' devem ser usadas. Com regulamentos de uso de partes que formam as plantas, como: folhas, cascas, raízes ou flores, como opção terapêutica, no Sistema Único de Saúde (BRASIL, 2006)

As plantas são fontes de vários produtos biológicos ativos, que dão origem a vários fármacos comerciais, com crescente interesse de pesquisadores quanto a diversidade de propriedades físico-químicas contidas em grupos de plantas, pouco estudados e com desconhecido potencial medicinal na maioria das espécies (ROZZATO, 2012).

Sendo assim, este trabalho teve por objetivo avaliar *in vitro* o potencial do extrato etanólico de duas plantas do bioma caatinga frente aos isolados de *Staphylococcus* spp. obtidos de casos de mastite subclínica em caprinos criados em municípios dos estados de Pernambuco e Bahia.

2 - REFERENCIAL TEÓRICO

2.1. Caprinocultura leiteira

A criação de cabras, é uma atividade comum no Submédio São Francisco, através do leite produzido, muitos produtos são demandados pelo consumidor. A partir da necessidade de testar novos artifícios para controlar a população de bactérias que atacam o organismo desses animais de produção, e por sua vez, prejudicam o funcionamento do organismo animal, altamente explorados na região, o material utilizado para combate de bactérias, conhecidos como “antimicrobianos” classificados como bactericidas, bacteriostáticos e bacteriolíticos (TNS, 2015), podem ser avaliados a partir de testes, com as referidas plantas, no controle de micro-organismos isolados, a partir do leite dos caprinos produzidos na região.

As bactérias do leite, formam um grupo específico de grande importância, sendo benéficas (fermentadas) ou maléficas (patogênicas/deteriorantes), o gênero *Staphylococcus*, por ser o principal causador de infecções bacterianas no homem, dividindo-se em dois grandes grupos com base na produção da enzima coagulase (CUNHA, 2004), é um dos patógenos da microbiota normal do ser humano, com ação transitória sem apresentar danos (MARTINS; TRABULSI, 1999), está presente em muitas partes do corpo humano, como fossas nasais, principal reservatório das mesmas (SANTOS; SCOCHI; SOUZA, 1990).

2.2. Mastite em caprinos

Embora apresente um significativo rebanho caprino, alguns problemas constituem sérios entraves para o crescimento da atividade na região Nordeste, podendo-se citar, aqueles de origem sanitária. Dentre estes, destaca-se a mastite, uma inflamação da glândula mamária ocasionada, geralmente, por micro-organismos que provocam alterações físicas, químicas e geralmente bacteriológicas no leite, e posteriormente alterações patológicas do tecido glandular (BLOOD E HENDERSON, 1974). Quanto a situação das cabras leiteiras, em relação a infecções intramamárias, por vezes, causadas por diversas espécies de *Staphylococcus* spp. (BERGONIER et al. 2003; CONTRERAS et al. 2007). De acordo com KOOP et al. (2012), à ação de patógenos no úbere determina-se pelo potencial de elevação, a contagem de células somáticas (CCS), por isso o declínio

da produção de leite em função da mastite clínica. Com o aumento da criação de caprinos e o aumento da demanda de produção leiteira, a qualidade do leite vem sendo cada vez mais solicitada, pelo mercado consumidor, e uma patologia que rodeia essa qualidade é a mastite. A mastite caprina, assim como a bovina, tem trazido prejuízos econômicos para a atividade de criação e produção desses animais, por conta da sensibilidade do leite, necessitando de tratamento da inflamação, monitoramento desses animais infectados e assistência técnica necessária para produção (DULIN et al., 1983; BARROS e LEITÃO, 1992), gerando assim problema de saúde pública (GUSS, 1975), tratado por muitos produtores, com uso de antibióticos e quimioterápicos, no geral segundo LANGONI (2006), o uso de antimicrobianos como: ampicilina, cefalospirina, gentamicina, neomicina, nitrofurantoina, oxacilina, penicilina, tetraciclina para controle das bactérias, em teste sensibilidade in vitro com cepas para *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium bovis* isolados de amostras de leite de cabras com mastite subclínica, em Botucatu-SP, averiguando-se no estudo de sensibilidade das bactérias *Staphylococcus epidermidis*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus* e *Corynebacterium bovis*, nos agentes isolados com maior frequência, sendo a oxacilina e gentamicina os antibióticos que apresentaram melhor ação inibitória.

Neste sentido, é de fundamental importância a descoberta de produtos naturais com potencial para uso na terapia das infecções intramamárias em cabras leiteiras. Além disso, tendo em vista a produção de biofilme em muitos patógenos, tem-se a necessidade de investigar a ação dos extratos de plantas frente a esta matriz.

2.3. Uso de extratos de plantas

A flora brasileira é muito rica e abriga várias espécies de plantas com características distintas de adaptação a ambientes, como as plantas daninhas, invasoras e ou espontâneas. As plantas produzem uma variedade de componentes orgânicos, que são divididos em dois grupos conhecidos como metabólitos primários (armazenam energia) e os secundários (garantem a sobrevivência e competição no ambiente), destacando-se por serem compostos químicos (flavonoides, alcaloides, taninos, cumarinas, agliconas, antraquinônicas, triterpenos e/ou esteroides,

saponinas e polifenóis) não necessários para a sobrevivência imediata da célula, porém significam essencialmente uma vantagem evolucionária para a sua sobrevivência e reprodução (VIZZOTTO et al., 2010). Segundo estudos, óleos essenciais, flavonoides, alcaloides, taninos e quinonas, todos isolados de plantas, são descritos na literatura por apresentarem atividades biológicas, dentre elas atividade antibacteriana (SAVOIA, 2012).

Comparando-se o uso de extratos vegetais de plantas, quando comparados a produtos sintéticos, deve-se ao fato de gerar novos compostos, os quais os patógenos não se tornaram capazes de inativar, além de serem menos tóxicos, serem degradados rapidamente pelo ambiente, possuírem um amplo modo de ação e de serem derivados de recursos renováveis (FERRAZ, 2008).

Segundo Lorenzi & Matos (2002), a busca de propriedades medicinais nos vegetais é uma alternativa que permite descobrir efetivamente formas de recuperação e manutenção do funcionamento do organismo. Por isso, é crescente a demanda de estudos com extratos naturais eficientes e úteis para controle de organismos maléficos/degradantes que assolam os seres vivos, levando-se em consideração o fato de que as alternativas apresentadas não tragam efeitos adversos para o ambiente e para os organismos (HOCAYEN & PIMENTA, 2013).

Contudo, produtos naturais representam atualmente uma fonte detentora de novos compostos com atividade antimicrobiana, capaz de fornecer novos medicamentos no combate de bactérias causadoras de doenças (MAIA, 2015).

A *Turnera subulata* Sm. , espécie da Família Turneraceae, conhecida como chanana ou flor do guarujá, é uma herbácea ruderal, arbustiva, nativa, não endêmica do Brasil, encontrada nas regiões Norte, Nordeste, Centro-oeste, Sudeste e Sul do país (FLORA DO BRASIL, 2017), possui compostos como flavonoides glicosilados, feofitina, quercetina, campferol (PORTAL VEGETAL, 2017), ocorrem normalmente nas margens das estradas e em áreas associadas com algum distúrbio antrópico (VIANA & SILVA, 2010).

Por meio de estudos com plantas medicinais, a chanana vem sendo indicada como tratamento para ferimentos cutâneos e tumores (NITZ et al. 2006; FALEIRO et al. 2009; BARACHO, et al. 2009), outras espécies de *Turnera* vem sendo estudadas,

na América Central. Os índios usam o extrato aquoso da planta *T. difusa* como expectorante, diurético, afrodisíaco e em outros tratamentos (Perez et al., 1984), seu decoto de folhas de *T. difusa* é indicado para distúrbios digestivos (Krag, 1976; Ishikura, 1982). Na Bolívia, utiliza-se extrato aquoso de folhas no tratamento da blenorragia. Com a *T. ulmifolia*, é feito um preparado usando-se a planta inteira, indicado para mulheres em período pós-parto e para amenorréia (Ayensu, 1978). Os cubanos usam o extrato aquoso a quente das flores para alívio das cólicas menstruais. E na Jamaica, o extrato aquoso das folhas serve como antipirético e na Colômbia o decoto das folhas destina-se a fins abortivo (CAMARGO; VILEGAS, 2010).

A *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby (Lam.) H.S.Irwin & Barneby, é uma espécie naturalizada, conhecida popularmente como cássia de sião, não endêmica do Brasil (FLORA DO BRASIL, 2018), cultivada no país e em outras regiões da América tropical, originária de Burma e Tailândia (Irwin & Barneby, 1982) pertencente à Família Fabaceae, com 80 espécies no país (Souza & Bortoluzzi, 2015). É uma árvore, utilizada na arborização urbana, exibe floração persistente, é explorada na medicina popular, em muitos países. Dentre as partes mais usadas, destaca-se o uso das folhas, na decocção, por exemplo, em banhos no tratamento da malária, em casos de tosse, dores estomacais. Seus alcaloides, mostraram ação anti-plasmodial. Também utilizada como adubo verde ou forragem, seu extrato acético das folhas exibe ação antidiabética, baixando o nível de glicose no plasma sanguíneo. Ações antioxidante, antitumoral, antihipertensiva, anti-inflamatória, antipirética e antimicrobiana (em fungos e bactérias) de diversos extratos das folhas são observados em pesquisas.

A decocção das flores é popularmente bebida ou ingerida em casos de malária, desordens do fígado, insônia e asma. Possui propriedades antioxidantes e ansiolíticas nas flores. Na África, popularmente, utiliza-se uma decocção das raízes para tratar a diabetes mellitus, febre, hipertensão, constipação e insônia. O extrato clorofórmico da casca do tronco teve grandes resultados antiplasmodiais e os extratos metanólico e aquoso, antioxidante (KAMAGATE, 2014).

3 - OBJETIVOS

3.1 Objetivo Geral

Avaliar o potencial inibitório do crescimento bacteriano do *Staphylococcus* spp. em extratos de *Turnera subulata* Sm. e *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby (Lam.) H.S.Irwin & Barneby.

3.2. Objetivos específicos

- ✓ Conhecer as principais classes de metabólitos secundários presentes nos extratos
- ✓ Determinar a concentração bactericida mínima dos extratos testados
- ✓ Comparar o resultado dos gêneros de bactérias avaliados quanto a ação dos extratos

4 - MATERIAL E MÉTODOS

4.1- Coleta do Material Botânico

A *Turnera subulata* Sm. (Voucher 5278) foi coletada na cidade de Sobradinho-BA, e a *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby (Lam.) H.S.Irwin & Barneby (Voucher 5279), foi coletada no IF Sertão Campus Petrolina Zona Rural, ambas, seguiram para identificação, com o auxílio da plataforma FLORA DO BRASIL, posteriormente foi realizado o depósito das espécies no herbário do Núcleo de Ecologia e Monitoramento Ambiental (NEMA) da UNIVASF.

4.2- Processamento do Material Vegetal

O material vegetal (folhas e flores) foi dessecado em estufa com circulação forçada à temperatura média de 40°C durante três dias, no Laboratório de Solos do IF Sertão Campus Petrolina Zona Rural. Após a secagem e completa estabilização (eliminação de água, inativação de enzimas, etc.), em seguida foi processado em moinho, obtendo-se um material vegetal seco e pulverizado.

4.3- Obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB)

No Laboratório de Química do IF Sertão Campus Petrolina Zona Rural, o material vegetal seco e pulverizado, foi submetido à maceração exaustiva com etanol 95% em um recipiente de aço inoxidável. Foram feitas várias extrações num intervalo de 72 horas entre cada filtragem até o completo esgotamento do material vegetal, que durou 30 dias. O concentrado obtido, foi retirado do balão volumétrico com o solvente Clorofórmio, o mesmo foi evaporado à pressão reduzida com temperatura média de 40 °C durante por 2 dias, para limpeza de cada balão (recipiente usado no rotavapor), e posteriormente, evaporação do solvente, e obtenção do Extrato Etanólico Bruto (EEB) dos vegetais coletados.

4.4- Testes de Cromatografia em Camada Delgada – CCDA

Para a composição da avaliação descritiva qualitativa dos compostos químicos dos extratos, realizou-se o teste físico-químico de separação de metabólitos, fundamentada na migração diferencial dos componentes de uma mistura, que ocorre devido a diferentes interações, entre duas fases imiscíveis, a fase móvel e a fase estacionária, utilizada para a identificação de compostos, por comparação com padrões previamente existentes, para a purificação de compostos, separando-se as substâncias indesejáveis e para a separação dos componentes de uma mistura (DEGANI et al, 1998), o teste foi realizado no Laboratório de Química do IF Sertão Campus Petrolina Zona Rural.

Após a imersão das macroplacas de alumínio contendo as gotículas dos extratos, nos reagentes específicos, revelaram-se as cores indicadoras dos compostos químicos dos extratos produzidos, e avaliou-se posteriormente em capela UV de acordo com os comprimentos de ondas, com variações entre 254 nm e 365 nm (OLIVEIRA et al., 2010; SIMÕES et al., 2010; BRAZ et al., 2011), os referidos componentes.

4.5- Testes de Sensibilidade aos Extratos das Plantas

O teste foi realizado no Laboratório de Microbiologia do IF Sertão Petrolina Campus Zona Rural, onde foram analisadas três (3) cepas de *Staphylococcus* spp., obtidas de casos de mastite subclínica detectadas em caprinos dos rebanhos leiteiros localizados em áreas rurais dos municípios dos estados de Pernambuco e

Bahia, pertencentes a região do Vale do São Francisco, cedidas por voluntários da pesquisa do Projeto PIBIC edital 2017-2018 do IF Sertão Zona Rural, e mais uma cepa de *Staphylococcus aureus* “methicillin-resistant” (MRSA), conforme recomendado por Cos et al. (2006), totalizando quatro (4) indivíduos a serem avaliados.

Inicialmente, pesou-se 0,25 g do extrato, diluído em 10 mL de álcool hidratado, obtendo-se uma solução estoque na concentração de 25 mg/mL. A determinação da concentração inibitória mínima, baseada no documento M7-A7 (CLSI, 2008), consistiu na distribuição de 200 µL de caldo Muller-Hinton em placas de microtitulação; a seguir, 200 µL da solução estoque do extrato serão acrescentados ao primeiro poço e, após homogeneização, transferida para o segundo e assim sucessivamente, sendo obtidas as seguintes concentrações finais: 12.500; 6.250; 3.125; 1.562,5; 781,2; 390,6; 195,3 e 97,6 µg/mL.

No preparo do inóculo, colônias obtidas em Ágar Muller-Hinton, utilizadas na obtenção de uma suspensão bacteriana com turvação equivalente ao tubo 0,5 da escala de Mac Farland. Desta suspensão inoculamos 10 µL nos poços de microplacas contendo a diluição do extrato de etanólico. O material incubado a 37°C por 24h, em condições de aerobiose. Não foi possível determinar a concentração inibitória mínima (CIM) para verificar a menor concentração do extrato capaz de causar inibição do crescimento bacteriano. Nas diluições realizadas, não foi verificado crescimento bacteriano visível vai ser retirada uma alíquota de 10 µl, semeando-se na superfície de ágar MH e incubando por 48 horas a 37° C. A determinação da concentração bactericida mínima (CBM), a partir dos poços sem desenvolvimento de crescimento bacteriano visível, retirou-se uma alíquota de 10 µL, semeando-a na superfície do ágar Muller-Hinton. Após 48 h de incubação a 35 °C, definida a concentração bactericida mínima como a menor concentração do extrato etanólico em estudo capaz de causar a morte do inóculo. Todos os ensaios foram realizados em triplicata (Figura 01).

TESTE DE ELISA EM MICROPLACAS													
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	
12500	A	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	N Ã O U S O U
6250	B	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
3125	C	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
1562,5	D	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
781,2	E	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
390,6	F	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
195,3	G	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
97,6	H	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0		
		Extrato 1 Cassia-de-sião Senna siamea + Caldo + Bactéria			Extrato 2 Chanana Turnera subulata + Caldo + Bactéria			C A L D O + B A C T É R I A M H	C A L D O + B A C T É R I A	C A L D O + E x t 1	C A L D O + E x t 2	C A L D O + Á l c o o l + B a c t é r i a	

Figura 1- Esquema de microplaca utilizado no teste, cada coluna enumerada representa os poços utilizados, com exceção da coluna 12

4.6- Análise Estatística

A média da CBM obtida de cada isolado bacteriano será considerada como sendo a variável resposta. Para comparação dos valores da CBM entre os extratos testados foi realizado o teste de Mann-Whitney, com nível de significância de 5%. Para análise dos dados foi utilizado o programa BioEstat 5.0.

5 - RESULTADOS E DISCUSSÃO

Observou-se no teste fitoquímico, realizado no laboratório de química do IF Sertão Pernambucano, com eluentes e reveladores, a presença de vários compostos nos extratos etanólicos produzidos. Conforme demonstra a tabela 01.

Tabela 01. Caracterização fitoquímica das espécies

Compostos	<i>Turnera subulata</i>	<i>Senna siamea</i>
Alcaloides	+++	+++
Derivados antracênicos	-	+
Cumarinas	+++	+++
Flavanoides/taninos	++	++
Lignanas	+++	++
Saponinas	-	-

Mono/diterpenos	+++	+++
Triterpeno/esteroides	++	++

+ (presença fraca), ++ (presença moderada), +++ (presença forte), - (ausência)

Dos oito componentes citados no teste, observa-se a ausência das saponinas, em ambos extratos avaliados e presença de alcaloides (compostos orgânicos cíclicos), as cumarinas (lactonas do ácido o-hidroxi-cinâmico), os flavonoides/taninos, as lignanas, os mono/diterpenos e triterpeno/esteroide, apresentaram-se em ambos os extratos avaliados, diferentemente das saponinas, ausentes nos extratos, e os derivados antracênicos (derivados da oxidação dos fenóis) revelados apenas na *S. siamea*. Essa avaliação é meramente descritiva, uma forma qualitativa, que indica através das cores reveladas, os possíveis constituintes dos materiais em estudo.

Segundo trabalhos anteriores, autores relatam a presença de flavonoides em espécies do gênero *Senna*, como taninos, triterpenos, esteroides, alcaloides, açúcares redutores, flavonoides, saponinas, cumarinas, antocianidinas, emodina, antraquinona, ribarina, ácido málico, tartárico, crisofânico e óleo essencial (BARRESE PÉREZ; HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, 2002; ORDOÑEZ et al., 2004; BARRESE PÉREZ et al., 2005).

Em outro trabalho, os compostos químicos demonstrados no extrato bruto metanólico das folhas (EBMF) dos vegetais *S. alata* e *S. siamea*, foram os seguintes: açúcares redutores, antraquinonas, cumarinas, monoterpenos e sesquiterpenos, triterpenos e esteroides e flavonoides, segundo o autor, não houve presença de alcaloides e saponinas (SILVA, 2013).

No extrato etanólico da *T. subulata* Sm., ocorreu ausência de derivados antracênicos e saponinas. Em estudos realizados pelo laboratório de botânica, a partir de extratos com metanol e clorofórmio, provenientes de folhas de *Turnera subulata*, avaliando-se através de Cromatografia Gasosa - Espectroscopia de Massa, visualizou-se metabólitos secundários, como alcalóides, carboidratos, glicosídeos, saponinas, fitoesteróis e flavonoides, onde as saponinas apareceram no extrato aquoso, estando ausente no teste com clorofórmio e metanol (VIVEKRAJ et al, 2017).

Em estudo fitoquímico com extrato hidroalcóolico (EHT), de *T. subulata* Sm., verificou-se presença de flavonoides, agliconas, terpenos, saponinas, esteroides/taninos, baseados na coloração dos extratos (AMARANTE, 2015)

5.1- Teste Antimicrobiano

Foram considerados os resultados da concentração bactericida mínima (CBM), uma vez que não foi possível a visualização da turvação na microplaca, em decorrência da coloração dos extratos, conforme demonstra-se no apêndice.

Para a cepa de MRSA, observou-se inibição de crescimento da bactéria para o extrato de *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby com o volume de 12500 µg/mL, enquanto para o extrato de *Turnera subulata* os micro-organismos pararam de crescer no terceiro poço com 3125 µg/mL.

Para o isolado 2338 MD, observou-se inibição na concentração de 6250 µg/mL, que se manteve para os dois extratos, tanto da *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby quanto para a *T. subulata* Sm., concentrando no segundo poço o poder de inibição. Em relação à média de inibição, o isolado Xodó MD para o extrato 01 (primeira triplicata) de *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby (2083,3 µg/mL) obteve a menor quantidade em relação a *T. subulata* Sm. (2604,16 µg/mL) Extrato 2, enquanto o isolado Linda MD parou de crescer nos poços de *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby com 6250 µg/mL, para *T. subulata* Sm., a diferença de indicação do crescimento microbiano nos poços, refletiu no aumento da média de inibição no crescimento bacteriano, com 3645,83 µg/mL.

A atividade da *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby como bactericida foi comprovada através do uso de extrato etanólico proveniente das folhas, com ação inibidora para as cepas de *S. aureus* e *E. coli*, com zonas de 12 a 20 mm, respectivamente (BERNARDO et al, 2015), enquanto no trabalho, a menor concentração para a *S. aureus* obteve a faixa de 12500 mm.

Na tabela 2, observa-se a média de extrato mais eficiente por planta utilizada e a faixa de controle de crescimento dos microorganismos diante dos EEBs dos vegetais. Destacando-se a faixa da *T. subulata* Sm., que variou de 1562,5 – 6250 mm, pois sua ação antimicrobiana necessitou de uma menor dosagem de extrato, em relação ao tratamento com *S. siamea*.

Tabela 02. Dados da Contagem Bactericida Mínima - CBM

Família/Espécie	MÉDIA (µg/mL)	FAIXA (mm)
Fabaceae		
<i>Senna siamea</i>	6770,825	1562,5 - 12500
Turneraceae		
<i>Turnera subulata</i>	3906,2475	1562,5 - 6250

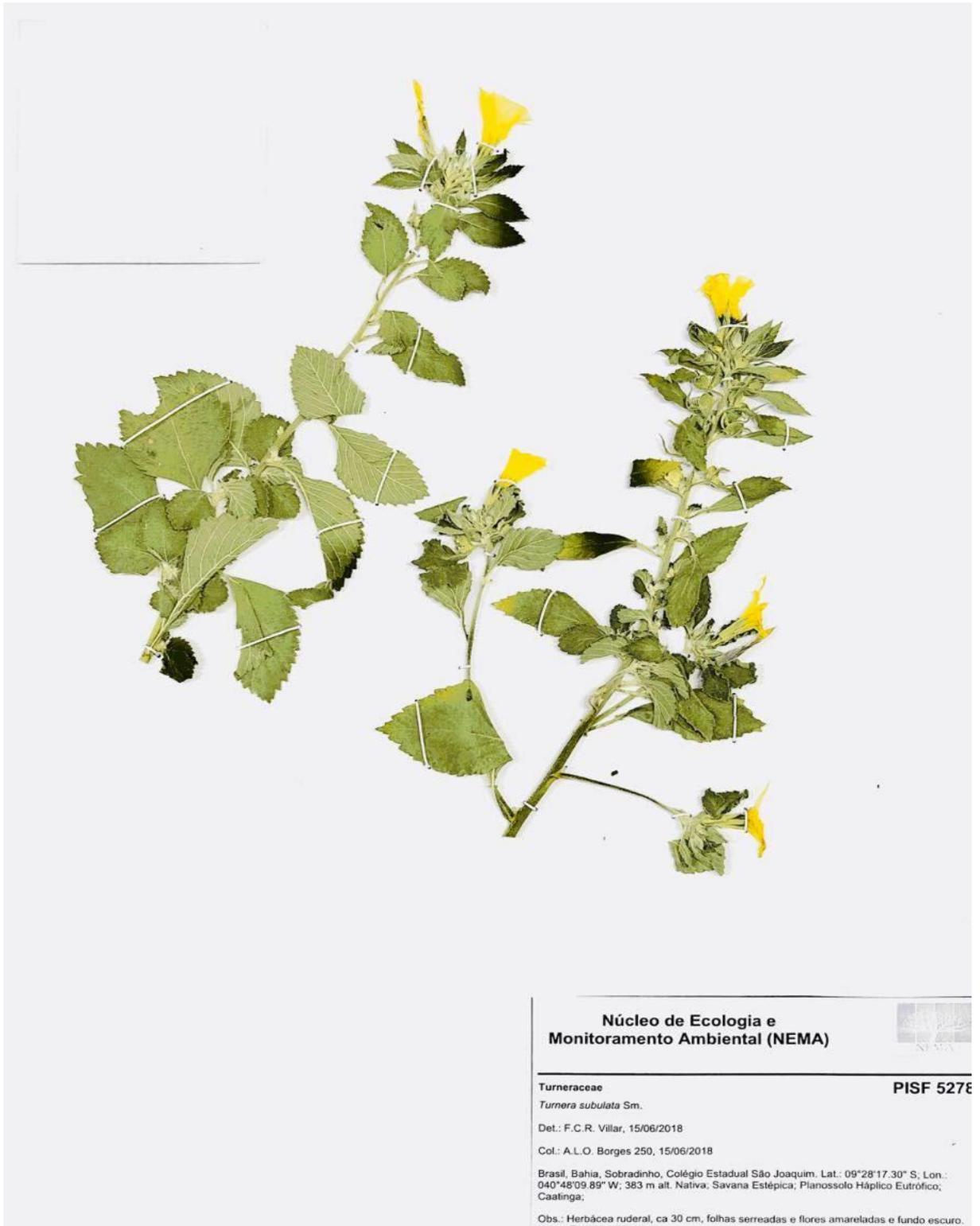
Valores referentes ao teste com os extratos etanólicos

6 - CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo foi encontrada atividade antibacteriana no extrato etanólico das duas plantas avaliadas, entretanto, são necessários estudos com variadas frações destes extratos. Considerando o baixo custo e facilidade na aquisição dos vegetais, a fitoterapia é uma alternativa frente a atividade das plantas do bioma caatinga, contra os patógenos da mastite caprina que ameaçam os rebanhos, outros estudos acerca da atividade *in vitro* e a avaliação dos aspectos toxicológicos das plantas, tornam-se necessários diante dos resultados demonstrados.

A investigação de ação bactericida de plantas pouco estudadas, se faz uma ferramenta valiosa, para composição de novos medicamentos contra microorganismos, perigosos e degradantes aos seres vivos. O trabalho evidenciou que através de teste com plantas da vegetação caatinga, é possível definir concentrações capazes de inibir bactérias e estimular novos estudos com outros vegetais que possam controlar as principais enfermidades dos animais de produção.

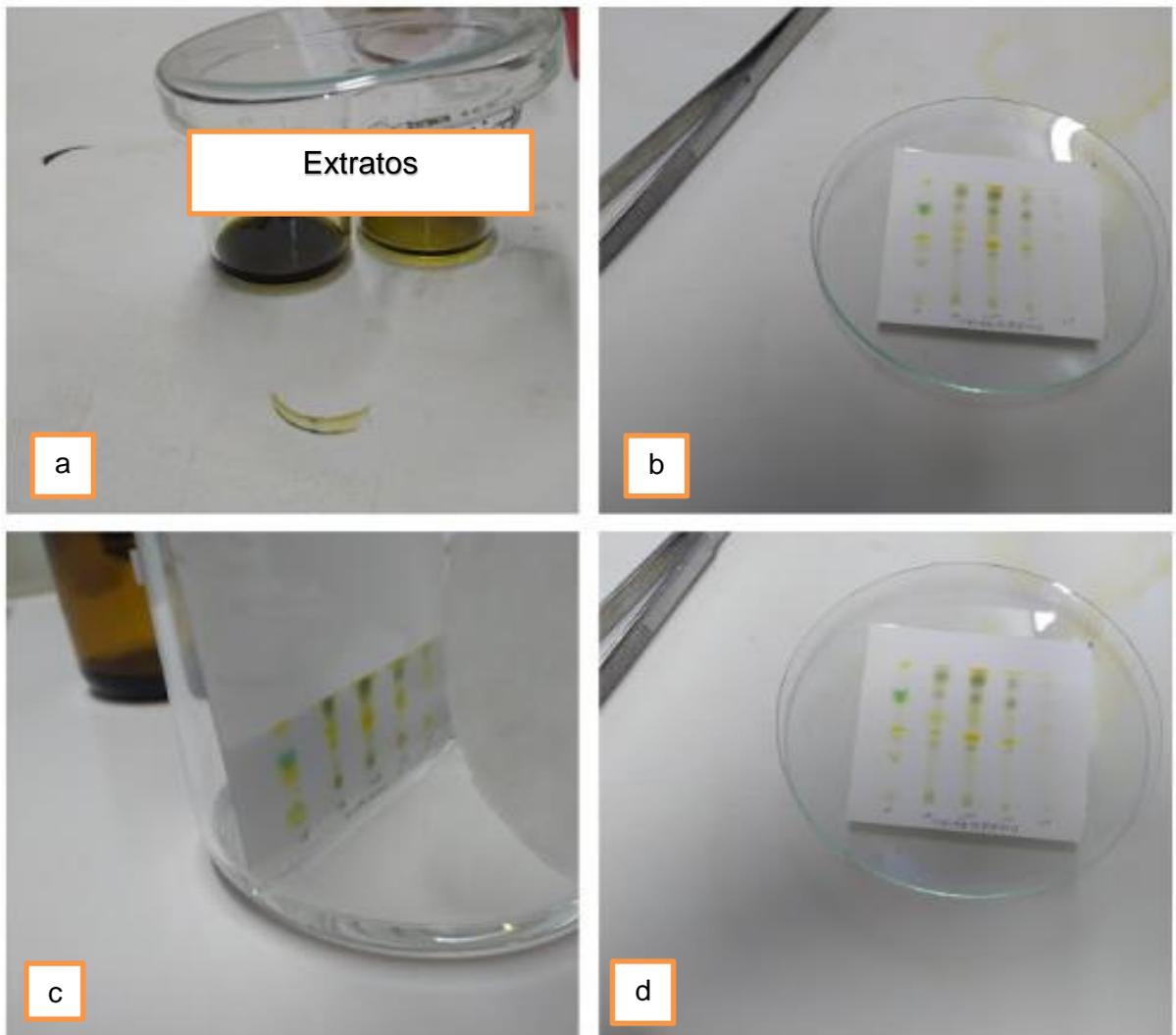
7 – APÊNDICE



7.1. Apêndice - Exsicata de *Turnera subulata*



7.2 Apêndice - Exsicata de *Senna siamea*



7.3 Apêndice - Etapas do teste de Cromatografia: a (amostras dos extratos preparados), b (cromato placa avaliada), c (cromato placa imersa no eluente e revelando as cores dos compostos) e d (cromato placa avaliada)

8 - REFERÊNCIAS

Amarante, Maria do Socorro Medeiros. **Efeito anti-inflamatório e antioxidante do extrato hidroalcoólico de *Turnera subulata* na colite ulcerativa induzida por ácido acético em ratos/ Maria do Socorro Medeiros Amarante** – Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Norte. Natal - RN, 2015.

Ayensu ES 1978. ***Medicinal plants from West Indies***. Manuscript, 110 p.

BARACHO, N. C. DO V.; OLIVEIRA, H. C.; MAGALHÃES, I. N.; GIL, B. L.; IRULEGUI, R. DE S.C.. **Extrato hidroalcoólico de própolis e cicatrização de feridas no diabetes tipo I: Estudo experimental**. Revista Científic@ Universitas. Vol 2, ed 2, 2009.

BARRESE PÉREZ, Y., HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, M. E. **Tamizaje fitoquímico de la droga y extracto fluido de *La gacamaya francesa***. R. Cub. Plant. Med., 7, 3, 1-4, 2002.

BARRESE PÉREZ, Y., HERNÁNDEZ JIMÉNEZ, M. E., PULPEIRO, O. G. **Caracterización y estudio fitoquímico de *Cassia alata* L.** R. Cub. Plant. Med., 10, 2, 1-5, 2005.

BARROS, G.C., LEITÃO, C.H. **Influência da mastite sobre as características físico-químicas do leite de cabra**. Pesq. Vet. Bras., v. 12, p. 45-48, 1992.

BERGONIER, D.; CREMOUX, R.; RUPP, R.; LAGRIFOUL, G.; BERTHELOT, X. (2003) **Mastitis of dairy small ruminants**. Vet Res, 34:689–716.

Bernardo, T. H. L.; Veríssimo, R. C. S. S.; Alvino, V.; Araújo, M. G.; Santos, R. F. E. P. D.; Viana, M. D. M.; Bastos, M. L. D. A.; Moreira, M. S. A.; Araújo Júnior, J. X. D. **Antimicrobial Analysis of an Antiseptic Made from Ethanol Crude Extracts of *P. granatum* and *E. uniflora* in Wistar Rats against *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis***. The Scientific World Journal 2015, 2015, 1. [CrossRef] [PubMed]

BORGES, A. L. O. **Estudo etnofarmacológico relacionado ao uso de plantas na terapia de enfermidades em animais de produção no Submédio São Francisco**. Anais e Memórias do IX Encontro Nordeste de Etnobiologia e Etnoecologia e do I Encontro de Etnobiologia e Etnoecologia do Piauí. Teresina-PI: Cadernos de Etnobiologia e Etnoecologia (CEE) da Revista Ethnoscintia - Sociedade Brasileira de Etnobiologia e Etnoecologia, 2017, p. 137. ISBN: 978-85-53002-00-9

BRASIL, Presidência da República. Decreto 5813 de 22 de junho de 2006 – **Aprova a Política Nacional de Plantas Medicinais e Fitoterápicos e dá outras providências.** Brasil, 2006.

BRAZ, R.; WOLF, L.G.; LOPES, G.C.; MELLO, J.C.P. **Quality control and TLC profile data on selected plant species commonly found in the Brazilian market.** *Brazilian Journal of Pharmacognsy.* v.22, n. 5, p. 1111-1118, 2011.

BLOOD, D. C., HENDERSON, J. A., **Medicina Veterinária**, Guanabara Koogan, 4^o Edição, Rio de Janeiro., 1978, p. 225-230.

CAMARGO, E. E. S; VILEGAS, W. **Controle de qualidade dos extratos polares de *Turnera diffusa Willd. ex Schult.*, Turneraceae.** *Rev. bras. farmacogn.* Vol.20 no.2 Curitiba Apr./May 2010.

CONTRERAS A.; SIERRA D.; SÁNCHEZ A.; CORRALES J.C.; MARCO J.C.; PAAPE M.J.; GONZALO C. (2007) **Mastitis in small ruminants.** *Small Rumin Res*, 68:145–153.

Cos P, Vlietinck AJ, Berghe DV, Maes L 2006. **Anti-infective potential of natural products: How to develop a stronger in vitro ‘proofof- concept’.** *J Ethnopharmacol* 106: 290-302.

CLSI. 2008. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. CLSI approved standard M100-S15.** Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.

CUNHA, M. L. R. S.; SINZATO, Y. K.; SILVEIRA, L. V. A. **Comparison of methods for the identification of coagulase-negative *Staphylococci*.** *Mem Inst Oswaldo Cruz*, v. 99, n. 8, p. 855-60, 2004.

DEGANI, A.L.G.; CASS, Q.B.; VIEIRA, P.C., **Química Nova na Escola**, 1998.

DULIN, A.M., PAAPE, M.J. SCHULTZE, W.D., WEINLAND, B.T. **Effect of parity, stage of lactation, and intramammary infection on concentration of somatic cells and cytoplasmic particles in goat milk.** *J. Dairy Sci.*, v. 66, p. 2426-2433, 1983.

FALEIRO, C.C.; ELIAS, S.T.H.; CAVALCANTI LC & CAVALCANTI, A.S.S.. **O extrato das folhas de babosa, *Aloe vera* na cicatrização de feridas experimentais em pele de ratos,**

num ensaio controlado por placebo. *Natureza on line* 7 (2): 56- 60, 2009. [on line] disponível em: <http://www.naturezaonline.com.br>.

FERRAZ, S.; LOPES, E. A.; AMORA, D. X. **Controle de fitonematoides com o uso de extratos e óleos essenciais de plantas**. In: POLTRONIERI, L. S.; ISHIDA, A. K. N. (Ed). Métodos alternativos de controle de insetos-praga, doenças e plantas daninhas. Panorama atual e perspectivas na agricultura. Belém: EMBRAPA Amazônia Oriental, 2008. 308. p.

FLORA DO BRASIL. Turneraceae in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB21354>>. Acesso em: 21 Dez. 2017

FLORA DO BRASIL. *Senna* in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB83717>>. Acesso em: 13 Jul. 2018.

GUSS, S.B. **Dairy goat herd health problems**. *J. Am. Vet. Med. Assoc.*, v. 167, p.1076-1079, 1975.

Irwin, H.S. & Barneby, R.C. 1982. **The American Cassiinae: A synoptical revision of Leguminosae - Tribe Cassieae subtribe Cassiinae in the New World**. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 35: 1-918.

Ishikura N 1982. **Flavonol glycosides in the flowers of *Hibiscus mutabilis* v. *versicolor***. *Agr Bio Chem Tokyo* 46: 1705-1706.

HOCAYEN, P.A.S. ; PIMENTA, D.S. **Extrato de plantas medicinais como carrapaticida de *Rhipicephalus (Boophilus) microplus***. *Rev. Bras. Pl. Med.*, Campinas, v.15, n.4, supl.I, p.627-631, 2013.

KAMAGATÉ, M. et al. **Ethnobotany, phytochemistry, pharmacology and toxicology profiles of *Cassia siamea* Lam.** In: *The Journal of Phytopharmacology* 2014; 3(1): 57-76.

KOOP, G.; DE VLIEGHER, S.; DE VISSCHER, A.; SUPRÉ, K.; HAESEBROUCK, F.; NIELEN, M.; VAN WERVEN, T. (2012a) **Differences between coagulase-negative *Staphylococcus* species in persistence and in effect on somatic cell count and milk yield in dairy goats**. *J Dairy Sci*, 95:5075–5084.

Krag KJ 1976. **Plants used as contraceptives by North-American indians. An ethnobotanical study.** Thesis BS, Harvard University, 117 p.

Langoni, Helio; Domingues, Paulo Francisco; Baldini, Simone. **Mastite caprina: seus agentes e sensibilidade frente a antimicrobianos.** R. bras. Ci. Vet., v. 13, n. 1, p. 51-54, jan./abr. 2006

LORENZI, H.; MATOS, F.J.A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas.** 2.ed. São Paulo: Plantarum, 2002. 512p.

Maia, Thalita de Faria. **Avaliação de extratos vegetais para obtenção de sabonetes com atividade antimicrobiana / Thalita de Faria Maia.** Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa. Referências bibliográficas: f.52-63. Viçosa, MG, 2015.

MARTINS, L.T. **Staphylococcus.** In: TRABULSI, L.R. et al. **Microbiologia.** 3. ed. São Paulo: Atheneu, 1999. Cap. 18; p. 149-55.

NITZ, A.C.; ELY, J. B.; D'ACAMPORA, A. J.; TAMES, D. R.; CORREA, B. P.. **Estudo morfométrico no processo de cicatrização de feridas cutâneas em ratos, usando: Coronopu didymus e Calendula officinali.** Arquivos Catarinenses de Medicina, Vol. 35, n 4, 2006.

OLIVEIRA, F.; RITTO, J.L.A.; AKISUE, G.; BACCHI, E.M. **Fundamentos de cromatografia aplicada a fitoterápicos.** São Paulo, Ed. Atheneu, 1 ed., 2010.

ORDOÑEZ, M.G.; GOVÍN, E.S.; BLANCO, M.A.G. **Actividad antimicrobiana de Senna alata L. R. Cub. Plant. Med,** 9, 63-72, 2004.

Perez RM, Ocegueda GA, Munoz JL, Avila JG, Morrow WW 1984. **A study of the hypoglycemic effect of some Mexican plants.** J Ethnopharmacol 123: 253-262.

PORTAL VEGETAL. Chanana – Turnera subulata Planta Medicinal. Disponível em <https://www.vegetall.com.br/chanana-turnera-subulata/>, última atualização: 29 de março - 2017 às 19:54

ROZZATO, M. R. **Determinação da atividade antimicrobiana in vitro de extratos, frações e compostos isolados de *Arrabidaea brachypoda* / Mariana Rodrigues Rozatto.** – Araraquara, 2012 100 f. Disponível em < <http://www2.fcfar.unesp.br/Home/Pos-graduacao/CienciasFarmaceuticas/MARIANA%20RODRIGUES%20ROZATTO.pdf> > acesso em maio de 2018.

SANTOS, B. M. O.; SCOCHI, C. G. S.; SOUZA, M. T. G. **Prevalência de portadores são de *Staphylococcus aureus* em pessoal de enfermagem de unidades** Endereço para correspondência Maria de Lourdes Ribeiro de Souza da Cunha Departamento de Microbiologia e Imunologia – Instituto de Biociências UNESP Caixa Postal 510, 18618-000 – Botucatu-SP Tel. +55 (14) 3811-6058 Fax: +55 (14) 3815-3744 e-mail: cunhamlr@ibb.unesp.br. pediátricas de um hospital geral escola. Parte I. Rev Pauli Hosp, v. 38, p. 24-9, 1990.

SAVOIA, D. **Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics.** Future Microbiol; 7: 979-90, 2012.

SILVA, G. K. C. **CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA E ATIVIDADE BIOLÓGICA DE *Senna alata* L. ROXB E *S. siamea* (Lam.) H.S.Irwin & Barneby LAM. (FABACEAE) / Grace Kelly Cordeiro da Silva – Recife, 2013.**

SIMÕES, C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMANN, G.; MELO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** Florianópolis, Ed. da UFSC, 6 ed., 2010.

SOBRINHO, T.J.S.P. et. al. **Phytochemical screening and antibacterial activity of four *Cnidoscolus* species (Euphorbiaceae) against standard strains and clinical isolates.** Journal of Medicinal Plants Research. v. 6, n. 21, p. 3742-3748, 2012.

Souza, V.C.; Bortoluzzi, R.L.C. *Senna* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em < <http://rubens-plantasdobrasil.blogspot.com.br/2011/11/senna-siamea-lam-hs-irwin-barneby.html> > acesso 10 de maio de 2018.

VIANA, B.F; SILVA, F. O. **Biologia e ecologia da polinização** / organizadoras Blandina Felipe Viana e Fabiana Oliveira da Silva. - Salvador: EDUFBA, Rede Baiana de Polinizadores, 2010. 230 p. : il. - (Série Cursos de campo; v.2)

Vivekraj P, Vinotha S, Vijayan A, Anand Gideon V. **Preliminary Phytochemical Screening and GC-MS Analysis of Methanolic Extract of Turnera subulata Smith (Passifloraceae).** The Journal of Phytopharmacology 2017; 6(3): 174-177

VIZZOTO, M.; KROLOW, A. C.; WEBER, G. E.B. **Metabólitos secundários encontrados em plantas e sua importância.** Documento: Embrapa Clima Temperado, Pelotas, n.316, 2010. p.7-15.